Prüfung der neueren Methoden zum Nachweis der Typhusbazillen im Wasser.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Grh. Bad. Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von

Richard Streitz.

Stargard 1906.

L. C. Wandt (Inh. H. Holland) Stargard, Pommern.

Prüfung der neueren Methoden zum Nachweis der Typhusbazillen im Wasser.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Grh. Bad. Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von

Richard Streitz.

Stargard 1906,

L. C. Wendt (Inh. H. Heilandt) Stargard, Pommern.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Heidelberg.

Referent: Geh. Hofrat Prof. Dr. Knauff.

Dekan: Prof. Dr. Kossel.

Seinen lieben Eltern

gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153311_0008

Nachdem in den 50 Jahren des 19. Jahrhunderts der Engländer Budde zum ersten Male mit der Anschauung hervorgetreten war, daß das spezifische, den Typhus erzeugende Agens mit den Dejektionen der Typhuskranken nach außen auf die Oberfläche des Bodens und von dort in das Trinkwasser gelangen könne, ist durch eine reiche Fülle von Beobachtungen die Bedeutung des Trinkwassers für die Verbreitung des Typhus in der überzeugendsten Weise nachgewiesen worden.

Die geistreiche Pettenkofer'sche Grundwassertheorie, welche besonders in Deutschland lange der Budde'schen Lehre entgegen getreten war, mußte nach der im Jahre 1880 erfolgten Entdeckung des Typhusbazillus aufgegeben werden, weil sie sich mit dessen biologischem Verhalten nicht vereinbaren ließ.

Zahlreiche Forscher haben sich seitdem bemüht, in mit bestimmten Wasserbezugsquellen verknüpften Epidemien die Typhusbazillen nachzuweisen. Indessen diese Bemühungen waren lange Zeit erfolglos und auch heute noch gehört der Nachweis von Typhusbazillen aus einem Wasser, durch welches zweifellos zahlreiche Krankheitsübertragungen stattgefunden haben, zu den größten Seltenheiten.

Der Grund, weshalb der Bazillennachweis so selten zu liefern ist, liegt einmal darin, daß wir in vielen Fällen mit unseren Untersuchungen zu spät kommen. Bei der langen Inkubationszeit des Abdominaltyphus und der anfangs unsicheren Diagnose, besonders der ersten Fälle einer Epidemie, werden zu der Zeit, wo wir auf die Infektionsquelle aufmerksam geworden sind, die schuldigen

Bakterien daraus oft schon wieder verschwunden sein. Die Hauptschuld an den bisherigen schlechten Erfolgen trägt jedoch die Mangelhaftigkeit unserer Untersuchungsmethoden.

In beiden Fällen liegen also die Verhältnisse außerordentlich viel ungünstiger als etwa bei der Cholera, wo wir infolge der kurzen Inkubationszeit und des charakteristischen, schnell sich entwickelnden Krankheitsbildes rechtzeitig auf die Infektionsquelle aufmerksam gemacht werden, und wo wir in dem Peptonwasserverfahren eine vorzügliche Anreicherungsmethode besitzen, um auch vereinzelte Keime aufzufinden.

Erschwert wird das Auffinden der Typhusbazillen aus dem sie enthaltenden Wasser besonders durch die zahlreichen Wasserbakterien, welche die Typhuskeime überwucherten und das Auffinden der Typhuskolonien verhinderten, ferner durch die unzureichenden Methoden zur Identifizierung der verdächtigen Kolonien mit Typhus und dann durch den Mangel eines Anreicherungsverfahrens.

Die beiden ersten Schwierigkeiten sind jetzt größtenteils überwunden. Es ist gelungen, durch geeignete physikalische und chemische Agentien die störende Entwicklung der vorhandenen saprophytischen Keime zurückzuhalten, ohne die Typhusbazillen zu schädigen. Die Gruppe des Bacterium coli allerdings hat sich nach allen Richtungen hin widerstandsfähiger erwiesen als Bacterium typhi, und es ist nicht gelungen, sie auszuschalten, oder auch nur dem Typhusbazillus gegenüber in der Entwicklung zurückzuhalten.

Auch über sichere Methoden, um typhusverdächtige Kolonien als solche zu identifizieren, verfügen wir jetzt.

Wenn auch die vielfachen Bemühungen, schon auf den Nährboden die Typhuskolonien von denen der Koligruppe und der typhusähnlichen zur Unterscheidung zu bringen, ihr Ideal noch immer nicht erreicht haben, so haben sie doch die Zahl der in Betracht kommenden

Kolonien beträchtlich eingeengt, und wir können durch Überimpfen in Bouillon, Zuckerager, Milch, Lackmusmolke, namentlich aber durch die Agglutinationsprobe und den Pfeiffer'schen Versuch, Typhusbazillen sicher erkennen.

Völlig mißlungen sind bisher aber alle Anreicherungsversuche, die, ähnlich wie das Peptonwasserverfahren bei der Cholera, darauf hinzielten, durch spezifische Zusätze zu dem Wasser, die anderen Bakterien in ihrer Entwicklung zu hemmen, die Typhusbazillen aber zu begünstigen und zu starker Vermehrung zu bringen, um sie dann mit Hilfe des Plattenverfahrens mit Leichtigkeit nachweisen zu können. Immer hat sich auch hierbei die Koligruppe als lebenskräftiger erwiesen, und die Methoden wirkten geradezu schädlich, indem sie eine Überwucherung der etwa vorhandenen Typhuskeime durch die Koligruppe begünstigten.

Die neueren Methoden zum Nachweis der Typhusbazillen im Wasser gehen nun darauf hinaus, entweder die in einer möglichst großen Wassermenge enthaltenen Keime überhaupt einzuengen und so möglichst viel zur Untersuchung zu bringen (Sedimentierung durch Zentrifugieren, oder chemische Füllung nach Vallet und Schüder), oder aber die Typhusbazillen möglichst gesondert zu fällen (Präzipitierung mit spezifischem, agglutinierendem Serum nach Chantemesse bezw. Windelband). Auch suchte man die Beweglichkeit der Typusbazillen auszunutzen durch Ausschleudern und spätere Impfung von der Oberfläche (Chantemesse, Kleine).

Im Heft 1, Band 24 der „Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt" werden nun im Vorwort besonders zwei Methoden zum Nachweis der Typhusbazillen aus dem Wasser empfohlen.

Die eine ist von Herrn Stabsarzt Dr. v. Drigalsk. angegeben und in demselben Hefte näher beschriebeni Der Autor empfiehlt, die verdächtigen Wasserproben in 5—10 Ltr. haltenden, nicht zu breiten, zylindrischen Blech-

kannen bei zerstreutem Tageslicht und Zimmertemperatur ruhig 1—2 Tage stehen zu lassen und dann mit steriler Pipette von der Oberfläche, je nachdem das Wasser mehr oder weniger verunreinigt sei, ein bis mehrere qcm zu entnehmen und diese auf der Oberfläche einer großen v. Drigalski-Conradi'schen Agarplatte zur Verteilung zu bringen. Der gleichmäßigen Verteilung des Wassers helfe man mit dem Glasspatel nach, lasse die Platten trocknen, halte sie 18—24 Stunden im Brutschrank bei 37° und prüfe die verdächtigen Kolonien auf ihre Typhusidentität.

Herr Stabsarzt Dr. v. Drigalski geht dabei von den Gesichtspunkten aus, daß viele grobe und spezifisch schwere saprophytische Keime, die Neigung haben, sich zu Boden zu senken und daß so statt einer völligen Vermischung der Keime, wie sie durch Ausschleudern oder chemische Füllung statt hat, eine Trennung der von selbst zu Boden sinkenden saprophytischen von den beweglichen, unter ihnen eventuellen Typhusbazillen zustande komme. Er weist ferner darauf hin, daß Stuhlpartikelchen meist auf der Oberfläche des Wassers schwimmen und diese dadurch zu einer günstigeren Fundstelle machen; auch physiologische Einflüsse, wie sie der verstorbene Niels R. Finsen bei der Einwirkung des zerstreuten Lichts auf niedere Organismen studiert habe, könnten in Betracht kommen. Infolge dieser Reizwirkung könne es möglich sein, daß sich die eigenbeweglichen Bakterienzellen in das Reizungsfeld, die einem zerstreuten Lichte ausgesetzte Wasseroberfläche, ziehen. v. Drigalski gibt an, daß dies Verfahren in der Praxis zweimal von ihm mit Erfolg in Anwendung gebracht sei und beschreibt dann einen Fall näher, in dem seine Methode erfolgreich gewesen wäre, die Schüder'sche dagegen im Stiche gelassen hätte.

Das zweite in dem oben genannten Hefte empfohlene Verfahren zur Züchtung der Typhusbazillen aus dem Wasser ist das Schüder'sche Sedinientierverfahren. Die Technik ist kurz folgende:

Das zu untersuchende Wasser werde frisch in einem oder mehrere hohe Meßzylinder von je 2 Ltr. Rauminhalt gegossen. Zu je 2 Ltr. Wasser werden 20 ccm. einer sterilisierten 7,75% wässerigen Lösung von Natriumhyposulfit hinzugefügt und gut gemischt. Darauf werden 20 ccm. einer sterilisierten 10% Lösung von Bleinitral in Wasser zugesetzt. Der entstehende Niederschlag werde entweder durch Zentrifugieren oder Stehenlassen während 18—24 Stunden und Abgießen der überstehenden Flüssigkeit gewonnen. Zu dem Bodensatz werden 14 ccm. einer sterilisierten, 100% wässrigen Lösung von Natriumhyposulfit getan, die Mischung gut geschüttelt und in ein steriles Röhrchen gegossen, bis sich die nicht löslichen Bestandteile zu Boden gesenkt haben. Von der klaren Lösung werden je 0,2—0,5 ccm. zu Platten verarbeitet. Schüder gibt an, daß in dem Niederschlag der weitaus größte Teil der Bakterien enthalten sei und daß die Chancen, Typhusbazillen in einem keimreichen Wasser zu finden, abgesehen von der großen Menge des zur Untersuchung gelangenden Wassers, dadurch erheblich sich verbessern, daß eine große Menge der gewöhnlichen Wasserbakterien bei der Prodezur zu Grunde gingen, die Typhusbazillen aber kaum geschädigt würden.

Die Nachprüfung dieser Methoden bildet den wesentlichen Teil der verlangten Arbeit.

Sie wurde in der Weise eingeleitet, daß 4 Glaszylinder, von denen jeder 1 Ltr. Wasser enthielt, mit 0,2 beziehungsweise 0,1, 0,05 und 0,025 ccm. einer 24stündigen Typhusbouillon geimpft und mit schwarzem Papier so umwickelt wurden, daß das diffuse Tagelicht nur die Oberfläche des Wassers treffen konnte. Nachdem die Gefäße so ruhig bei Zimmertemperatur 2 Tage gestanden hatten, wurde von der Oberfläche jeder Probe je 1 ccm. auf einer Gelatineplatte und je 3 ccm. auf einer Drigalski-Conradi-Platte ausgestrichen. Nach 3—4 Stunden waren die Platten getrocknet und wurden nun in den Brutschrank bei 22

bezw. 37° getan. Die Gelatineplatten waren 24 Stunden später so reich mit diesen Nährboden verflüssigenden Kolonien besetzt, daß sie für die weitere Untersuchung völlig unbrauchbar waren. Auf den v. Drigalski-Conradi' schen Platten waren die meisten dieser Wasserbakterien zurückgehalten; die Zahl der aufgegangenen Kolonien war eine bedeutend geringere und auf allen Platten waren Typhuskolonien gewachsen. Als solche wurden sie identifiziert durch die Agglutinationsprobe mit einem 200fach verdünnten Typhusserum, durch ihr reaktionsloses Verhalten in Bouillon, Zuckeragar und Milch.

Dieselben Gefäße mit dem infizierten Wasser wurden auch zur Prüfung des Schüder'schen Verfahrens benutzt. An demselben Tage, an welchem das Oberflächenwasser zur Verarbeitung gekommen war, wurden nach kräftigem Herumrühren des Wassers mit einem Glasstabe zu jedem Gefäße 40 ccm. einer 7,75% Lösung von Natriumhyposulfit und 40 ccm. einer 10% Lösung von Bleinitral gefügt. Es wurde die doppelte Quantität der von Schüder angegebenen Fällungsmittel genommen, da ja die Gefäße nicht wie bei den Versuchen des Autors 2 Ltr. sondern 4 Ltr. Wasser enthielten. Es entstand eine milchige Trübung, die sich in 24 Stunden abgesetzt hatte. Der entstandene Niederschlag wurde durch Abgießen der überstehenden Flüssigkeit gewonnen und mit 28 ccm. einer 100%igen wässerigen Lösung von Natriumhyposulfit gemischt. Der Niederschlag löste sich fast ganz und die Lösung wurde in sterile Röhrchen gegossen. Nachdem sich die nicht löslichen Bestandteile zu Boden gesenkt hatten, wurden von der klaren Flüssigkeit jedes Röhrchens je 0,5 ccm. auf einer Drigalski-Conradi und einer Endo-Platte mit dem Glasspatel ausgestrichen. Die Platten kamen dann in den Brutschrank bei 37°. Die meisten blieben steril; auf einigen wuchsen nach 2 Tagen kleine trockne Kolonien, die mit Typhus keine Ähnlichkeit hatten. Sie bestanden aus Gram negativen Stäbchen, die nicht beweglich waren

und nicht agglutinierten. Es waren also nach dem Schüder'schen Verfahren alle 4 Versuche erfolglos gewesen, auf keiner der 8 angelegten Platten waren Typhuskolonien gefunden worden.

Um nun zu sehen, welches die geringste Menge Typhusbouillonkultur sei, bei der sich nach dem Drigalski'schen Verfahren noch Bazillen im Wasser nachweisen ließen, wurden die Versuche in der beschriebenen Weise fortgesetzt und die Glascylinder mit immer kleineren Mengen einer 24stündigen Typhusbouillonkultur geimpft, so in der zweiten Reihe von Versuchen mit 0,02, 0,01, 0,005 und 0,001 ccm. Von jedem der vier Gefäße wurden von jetzt ab bei dem einzelnen Versuche 3 Platten angelegt, eine große Drigalski-Conradi'sche, eine große Endo'sche Platte, die beiden mit je 3 ccm. Oberflächenwasser beschickt, und eine kleine Drigalski-Conradi-Platte mit 1 ccm. Wasser. Es kamen also im Ganzen von je 4 Liter Wassern immer 7 ccm. zur Aussaat.

Auch diesmal konnten noch von allen 4 Proben Typhusbazillen gezüchtet und indentifiziert werden.

Die Versuche nach dem Schüder'schen Verfahren, die auch diesmal in der gleichen Weise wie in der vorigen Versuchsreihe den von Drigalski'schen angeschlossen wurden und für die die gleiche Zahl von Platten zur Anwendung kam, aber mit 0,5 beziehungsweise 0,2 ccm. Aussaat, waren auch diesmal alle ergebnislos. Die Platten blieben steril.

Bei der dritten Versuchsreihe betrugen die auf die Wasserbehälter übertragenen Quantitäten Typusbouillon 0,0005, 0,0001, 0,00005 und 0,00001 ccm. Die Maße wurden so gewonnen, daß zuerst 0,1 ccm. Typhusbouillon mit 10 ccm. Wasser gemischt wurden, von dieser Verdünnung wurde dann wieder 1 ccm. mit 100 ccm. Wasser tüchtig geschüttelt. Von der so gewonnenen 10000fachen Verdünnung werden nun 5, 1, 0,5 und 0,1 ccm. zur Infizierung des Wassers verwendet.

Typusbazillen konnten diesmal nur noch aus den beiden ersten Gefäßen nachgewiesen werden; alle Bemühungen, sie auch auf den Platten der beiden anderen Gefäße aufzufinden, waren erfolglos.

Es war also in diesen Versuchen gelungen, nach der von v. Drigalski angegebenen Methode noch Typhusbazillen im Wasser nachzuweisen, wenn 4 l. Wasser mindestens 0,00001 ccm. einer 24stündigen Typhusbouillon enthielten, während das Schüder'sche Verfahren völlig im Stich gelassen hatte. Es ist daher anzunehmen, daß bei letzterer Methode nicht nur, wie der Autor angiebt, die meisten Wasserbakterien, sondern auch die Typhusbazillen zu Grunde gehen oder so geschädigt werden, daß sie auf den benutzten Nährboden (Drigalski u. Endo) nicht mehr entwicklungsfähig sind. Bestätigt wird diese Annahme durch einen Versuch, den ich mit einer großen Menge Typhusbouillon genau nach den Angaben Schüder's ausführte. Ein Glascylinder, der 2 l. Wasser enthielt, wurde mit 2 ccm einer 24stündigen Typhusbouillon geimpft, und nachdem 1 ccm des Wassers auf einer Drigalski-Platte ausgesät war, nach Schüder behandelt. Es wurde also durch 20 ccm einer 7,75 % Lösung von Natriumhyposulfit und 20 ccm einer 10 % Lösung von Bleinitrat ein Niederschlag erzeugt, dieser Niederschlag in 14 ccm einer 100 % Lösung von Natriumhyposulfit gelöst, und 3 Drigalski-Conradi-Platten wurden mit je 0,5 ccm dieser Lösung beschickt. Alle drei Platten blieben steril, während die vor Einleitung des Schüder'schen Verfahrens angelegte Platte dicht mit Typhuskolonien besetzt war.

Um nun festzustellen, wieviel Typhuskeime ungefähr bei den einzelnen Versuchen in das Wasser übertragen worden waren, wurden 0,1 ccm einer 24stündigen Typhusbouillon auf das 1000fache mit sterilem Wasser verdünnt und hiervon mit 0,5 und 0,1 ccm der Verdünnung Gelatineplatten gegossen. Die Zahl der nach 3 Tagen aufgegan-

genen Kolonien wurde mit dem Wolffhügel'schen Zählapparat festgestellt.

Drei in dieser Art und Weise angestellte Versuche ergaben als Durchschnittszahl für 1 ccm einer 24 stündigen Typhusbouillon rund 60 Millionen Keime. Die geringste Zahl der Typhusbazillen in 4 l. Wasser, die nach dem von Drigalski angegebenen Verfahren noch nachzuweisen war, betrug also 6 000 Keime, gleich 0,000 1 ccm Bouillon. Auf 1 l Wasser kamen daher als Mindestzahl 1500 Keime und auf 1 ccm Wasser 1,5 Typhuskeime. Da nun immer 7 ccm Wasser auf 3 Platten zur Aussaat gekommen waren, so schien das Ergebnis des Verfahrens nicht gerade sehr günstig und legte die Vermutung nahe, daß das Resultat wohl nicht viel schlechter ausfallen würde, wenn man das Wasser nicht erst 2 Tage stehen ließe, sondern sofort eine möglichst große Menge des Wassers auf Platten verarbeite.

Um dies zu prüfen, wurden die Versuche in folgender Weise wiederholt: Dieselben, 4 l. Wasser enthaltenden Glascylinder wurden mit 0,01, 0,001, 0,0005 und 0,0001 ccm einer 24 stündigen Typhusbouillon geimpft; durch längeres Umrühren mit einem Glasstabe wurden die Bazillen möglichst gleichmäßig zur Verteilung gebracht, darauf mit einer Pipette von verschiedenen Stellen Proben des Wasser entnommen und von jedem Gefäß 7 ccm auf 2 Drigalski-Conradi und einer Endo-Platte ausgesät. Nun wurden die Cylinder wie vorher mit schwarzem Papier umgeben, um das Seitenlicht abzuhalten, zwei Tage im Zimmer stehen gelassen und dann 7 ccm von der Oberfläche mit der Pipette abgesogenes Wasser auf drei Platten verarbeitet. Nach beiden Methoden konnten von jedem Gefäße Typhusbazillen gezüchtet und identifiziert werden.

Dieselben Versuche mit 0,00005 und 0,00001 ccm Typhusbouillon ausgeführt waren ergebnislos. Nur auf einer Platte des mit 0,00001 ccm geimpften Gefäßes wurde eine Typhuskolonie gefunden.

Wie nach den ersten Versuchen der Schüder'schen Methode ein besonderer Wert nicht beigemessen werden kann, so hat die letzte Versuchsreihe dargetan, daß auch die von v. Drigalski angegebene Methode wenigsten bei den Laboratoriumsversuchen keine Vorteile vor dem Verfahren, sofort das Wasser auf Platten zu verarbeiten, bietet. Sie hat vielmehr den Nachteil, den Nachweis der Typhusbazillen, wenn er gelingt, um 1—2 Tage hinauszuschieben.

Von den seine Methode begünstigenden Umständen, die der Autor anführt, muß der, daß das die Oberfläche des Wassers treffende dieffuse Tageslicht die beweglichen Typhusbazillen anziehe, beanstandet werden. Diesem Punkte wurde bei den Versuchen volle Berücksichtigung geschenkt. Die Prüfung ergab aber, daß die Oberfläche des Wassers keine Sammelstätte der Typhusbazillen ist. Doch dürften in der Praxis die mechanischen Verhältnisse, die der Autor anführt, also Stuhlpartikelchen, mit denen die Typhusbazillen in das Wasser gelangt sein können, und die ja meist auf der Oberfläche des Wassers schwimmen, diese in geeigneten Fällen zu einer günstigen Fundstelle machen. Wenn dem zerstreuten Tageslicht aber keine anlockende Wirkung auf die Typhusbazillen zugesprochen werden kann, erscheint es unnötig, das Wasser 1 -2 Tage stehen zu lassen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß in dieser Zeit ein Teil der Typhusbazillen zu Grunde gehen kann und dann wird immer die Entscheidung unliebsam um 1—2 Tage hinaus geschoben.

Eine Zeit von 1—2 Stunden dürfte genügen, um Stuhlpartikelchen, die durch Bewegungen des Wassers in die Tiefe gerissen worden sind, wieder an die Oberfläche kommen zu lassen. Jedenfalls werden wir bei dem Mangel eines befriedigenden Anreicherungsverfahrens nach wie vor bestrebt sein müssen, eine möglichst große Menge des verdächtigen Wassers auf Platten zur Aussaat zu

bringen, um so die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, etwa darin enthaltene Typhusbazillen durch Züchtung der Krankheitserreger nachweisen zu können.

Zum Schlusse meiner Arbeit erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. Knauff, meinem hochverehrten Lehrer, für die gütige Übernahme des Referates, und für die freundlichst gewährte Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Litteratur.

Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt Band 24, Heft 1

Weyl's Handbuch der Hygiene

Zeitschrift für Hygiene Heft 42.

Lebenslauf.

Ich, Richard Erich Alfred Streitz, wurde am 29. Februar 1880 zu Papiermühle bei Woldenberg Kreis Friedeberg i. Nm. als Sohn des Mühlengutsbesitzers Richard Streitz und seiner Ehefrau Mathilde geb. Braun geboren und nach den evangelischen Glaubensregeln getauft. Nach Verkauf seines Mühlengutes verzog mein Vater nach Flatow i. Wpr., und ich besuchte daselbst bis zu meinem 14. Lebensjahre die „gehobene Schule". Darauf kam ich auf das Realgymnasium zu Bromberg, bestand Ostern 1901 die Reifeprüfung und studierte die beiden ersten Semester in Greifswald, die drei folgenden in Heidelberg, das sechste in Breslau und die drei letzten Semester wiederum in Heidelberg Medizin. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich in Heidelberg am 8. Mai 1903 und beendete daselbst am 24. März 1906 das medizinische Staatsexamen. Dem ersten Teile meiner Militärpflicht genügte ich im Wintersemester 1903—1904 in Breslau bei dem Grenadier-Regiment König Friedrich III. (2. Schles.) Nr. 11. Von der Ableistung des praktischen Jahres wurde ich befreit und bin seit dem 1. April dieses Jahres Assistent am hygienischen Institut der Universität Heidelberg.